

表皮生长因子影响舌苔形成的机制研究进展

唐义爽¹ 毛羽丰¹ 赵 瑜^{1,2} 胡义扬^{1,2}

(1 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所,上海,201203; 2 上海市中医临床重点实验室和肝肾疾病病证教育部重点实验室,上海,201203)

摘要 舌象是中医临床辨证论治的重要依据,舌苔是舌象重要组成部分。舌苔形成和变化的生理病理机制是一个重要的科学问题。近年来的研究表明,在舌苔形成过程中除了凋亡相关的基因,表皮生长因子(Epidermal Growth Factor,EGF)同样发挥着重要的作用。本文从 EGF 影响舌苔形成的机制角度做一综述,以期今后的研究提供思路与参考。

关键词 舌苔;表皮生长因子;机制

Research Progress on Mechanism of Epidermal Growth Factor Affecting the Forming of Tongue Coating

Tang Yishuang¹, Mao Yufeng¹, Zhao Yu^{1,2}, Hu Yiyang^{1,2}

(1 Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

201203, China; 2 Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Clinical Medicine, Key Laboratory

Liver and Kidney Diseases Ministry of Education, Shanghai 201203, China)

Abstract As an important part of the tongue image, tongue coating is a significant basis for the TCM syndrome differentiation and treatment. So the physiological and pathological mechanism of the formation and change of tongue coating is an important scientific problem. In recent years, researches indicate that in addition to apoptosis related genes, epidermal growth factor(EGF) also plays an important role on the formation process of tongue coating. This article tries to make a summary of relative study in order to provide foundation and reference for further research on the mechanism of EGF influence the formation of tongue coating.

Key Words Tongue coating; Epidermal growth factor; Mechanism; Review

中图分类号:R241.25 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.08.063

舌象是机体变化的窗口,是中医望诊的重要组成部分。察舌苔是中医临床辨证论治不可或缺的客观依据之一。中医认为,舌苔是由脾胃之气上蒸于舌,凝聚舌面而生,机体的功能状态、生理病理变化均可以通过舌象反映出来。随着科学技术的发展,对舌苔原理的研究已深入到基因分子水平,逐渐认识到舌苔的形成实质是舌黏膜上皮细胞不断分裂、增殖、分化、凋亡的过程,当这一过程保持相对平衡时,便表现为正常的薄白苔,当此过程中任意环节受到影响均可引起舌苔的变化^[1]。

1 表皮生长因子(EGF)的主要生物学作用及临床意义

EGF 是 1962 年由 Cohen 等^[2]在小鼠颌下腺中发现的一种含有 53 个氨基酸残基的单链多肽类物质,可促进新生小鼠提早开眼、长牙且对热稳定。EGF 作为一种生长因子,其缺乏或过度表达均会破坏组织细胞增殖凋亡的动态平衡,导致疾病的发生。EGF 可以调控上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞及多种间质细胞的分裂、增殖和迁移,既能加快外伤、手

术、烧烫伤等各种创面的愈合^[3],促进消化道溃疡的愈合^[4],修复角膜损伤^[5],还能促进细胞分泌透明质酸和糖蛋白,延缓皮肤衰老。EGF 可以促进原代培养肝细胞有丝分裂,诱导再生肝细胞 DNA 合成,与肝再生调控密切相关,对受损的肝细胞具有保护作用^[6]。研究发现 EGF 可以作为一种肿瘤促进因子促使正常的细胞恶性化,并通过促进肿瘤细胞增殖及肿瘤的血管生成、浸润和转移,推动肿瘤的进展。EGF 及其受体(Epithelial Growth Factor Receptor, EGF-R)的过度表达^[7]与多种肿瘤的发生、发展、转移及 TNM 分期、恶性程度等密切相关^[8],是多种肿瘤发生、发展及预后的重要生物学标志,尤其是在来自于上皮组织的肿瘤中常会出现 EGF-R 的过表达。EGF 与胃腺上皮的增生程度密切相关,可作为诊断胃腺癌的生物学区标^[9],人类表皮生长因子受体-2(Her-2)已成为国际公认的乳腺癌免疫靶向治疗的重要靶点^[10]。

2 舌苔与 EGF 关系的临床研究

临床实践证明,在疾病发展的过程中,舌象的变

基金项目:国家自然科学基金项目(81373857,81403298);上海市教育委员会“晨光计划”(14CG41)

作者简介:唐义爽(1990.08—),女,上海中医药大学在读硕士研究生,研究方向:中医药防治慢性肝病,E-mail:tangyishuang0819@163.com

通信作者:胡义扬(1962.08—),男,博士,研究员、教授,研究方向:中医药防治慢性肝病,E-mail:yyhuliver@163.com

化迅速而又鲜明,犹如内脏的一面镜子,凡脏腑的虚实、气血的盛衰、津液的盈亏、病位的深浅、证候的演变、病势的进退、预后的好坏,都能较客观的从舌象上反应出来,因此现代研究非常重视舌苔与疾病的关系。EGF 在下颌腺中大量存在,许多学者对此进行了探索,研究表明 EGF 在不同舌苔中的表达量不同,与舌苔的形成密切相关。

詹臻等^[11]通过对肿瘤和非肿瘤患者以及健康者的舌苔变化与唾液中表皮生长因子(h-EGF)含量的研究发现,肿瘤患者的舌苔明显较非肿瘤患者和健康人厚,且无论是肿瘤患者还是非肿瘤患者,呈厚苔者的 h-EGF 含量均高于呈薄苔者和健康人,具体表现为:厚苔 > 薄苔 > 花剥苔、镜面舌;黄苔 > 白苔。萧丹等^[12-13]通过对海洛因成瘾脱毒后 15 ~ 30 d 者和健康者的 h-EGF 含量研究发现,成瘾者中厚腻苔者明显多于对照组,且成瘾者厚苔组的 h-EGF 含量与薄苔组和对照组比较明显降低。陈雪功等^[14]发现在慢性胃炎患者中随着胃黏膜病变程度加重,厚苔和黄苔的比例升高,且厚苔组和黄苔组 h-EGF 含量及舌苔 EGF-R 的表达量分别较薄苔和白苔升高和增强。董伟等^[15]通过对胃癌患者和健康者舌象的观察及血清 EGF 的检测发现:胃癌组厚苔比例明显高于对照组,且胃癌组血清 EGF 水平比对照组明显升高,表现为黄薄苔 > 黄厚苔 > 剥苔。刘新华等^[16]以慢性乙型肝炎(CHB)患者、其他消化系统疾病和其他系统疾病患者及健康人为研究对象,通过免疫组化、末端标记测定、荧光定量 PCR 等方法检测唾液、血清 EGF,结果显示:与生理性薄白苔组比较,各病理舌苔组唾液、血清 EGF 含量及舌上皮细胞 EGF-R 阳性细胞率均升高。CHB 患者唾液和血清 EGF 含量趋势一致依次为:黄腻苔 > 白厚苔 > 少苔及剥苔 > 薄白苔 > 薄黄苔 > 正常薄白苔;在不同人群中唾液和血清 EGF 的含量则表现为:其他消化疾病组 > 肝病组 > 其他系统疾病组 > 正常对照组。

综上所述,不同人群同种舌象之间 EGF 含量不同,基本呈现出疾病组高于健康组,厚苔、黄苔患者高于薄苔、白苔患者的趋势,且唾液和血清 EGF 含量变化具有一致性。但这种规律并不完全一致,如在肿瘤和其他非肿瘤患者中,基本呈现出厚苔患者 EGF 含量高于薄苔患者的趋势,但在海洛因成瘾者中却恰恰相反,薄苔患者 h-EGF 含量高于厚苔患者。

3 EGF 影响舌苔形成的机制

3.1 EGF 通过促进 EGF-R 的表达影响舌苔的形成

EGF-R 是一种糖蛋白,在多种正常的组织细胞或

肿瘤细胞膜上均可检测到 EGF-R 的表达。EGF 只有通过与 EGF-R 结合,激活细胞内相关的信号转导途径,才能在靶细胞中产生复杂的生物学效应。周坤福等^[17]将 24 只普通级 ICR 雄性小鼠分为 2 组:实验组 18 只,给予 0.2 mL EGF 皮下注射,对照组 6 只,0.2 mL 生理盐水皮下注射,分别于给药后 2 h、24 h、48 h 处死,取同一部位舌组织经 HE 染色、EGF-R SABC 免疫组化染色后,通过图像观察、数据分析等来探讨其舌上皮细胞数量及 EGF-R 的表达情况。结果发现随着注射时间的延长,小鼠舌上皮基底层细胞增大、增多、着色变深、细胞分裂相增多,舌苔逐渐加厚。同时免疫组化 SABC 法结果显示皮下注射 EGF 后 EGF-R 的表达也随时间的延长而增多。詹臻等^[18]用相同方法的动物实验,许冬青等^[19]通过流式细胞术检测 EGF 对食管癌细胞 Eca109 细胞膜上 EGF-R 表达的影响,共同证实 EGF 可能是通过 EGF-R 机制进行信号传导从而促进舌苔上皮细胞增生使舌黏膜增厚的。许冬青等^[20]选择 22 例舌鳞癌切除术患者相对正常的舌黏膜区域,应用基因芯片、荧光定量 PCR 技术定量检测发现不同舌苔 EGF-R mRNA 表达水平从高到低依次为:黄厚苔 > 白薄苔 > 黄薄苔 > 无苔 > 白厚苔,具有显著的差异,且均高于对照组,证实 EGF 与 EGF-R 与舌苔的厚薄及苔色有必然的联系。佟书娟等^[21]采用免疫组化 S-P 法检测舌鳞癌患者不同舌苔黏膜组织中 EGF-R 的表达情况,发现 EGF-R 表达水平依次为:薄白苔 > 白厚苔 > 薄黄苔 > 黄厚苔,在正常对照和剥苔中无表达,与上诉舌癌患者舌黏膜上皮中 EGF-R 表达趋势相反。张军峰等^[22]选取 387 例胃癌患者和 392 例健康人为研究对象,通过聚合酶链反应-连接酶特异检测技术(PCR-LDR)检测发现不同舌苔患者 EGF-R 基因多态性不同,rs105017、rs2293347 可以影响苔色变化,rs17337023、rs1050171 和 rs2293347 可以影响苔质变化。也解释了上述 EGF-R 在同一患者群中表达趋势不同的可能原因之一,另外取材部位和检测方法的不同也是出现结果差异的可能原因。

3.2 EGF 通过促进凋亡相关基因的表达影响舌苔的形成 细胞凋亡是由基因控制的细胞主动死亡过程,研究表明凋亡相关基因表达水平的变化是舌苔厚度变化的重要机制^[23-24]。当舌上皮细胞的增殖、分化与凋亡处于相对平衡状态时,即表现为薄苔;当细胞增殖占优势,凋亡和分化相对占劣势时,舌上皮细胞增多,即表现为厚苔^[25]。刘新华等^[16]发现

CHB 黄腻苔和白厚苔者血清 EGF 含量明显高于正常对照组和其他各舌苔组,而舌上皮细胞凋亡指数(AI)却是最低的,说明 EGF 与细胞凋亡具有一定的相关性。许冬青等^[26]通过对不同浓度 EGF 作用不同时间的 Tca-8113 细胞膜上 Fas、c-myc 蛋白表达的研究结果显示:EGF 作用 12 h 后,5 ng/mL 组、10 ng/mL 组 c-myc 表达均明显升高,与对照组比较均具有显著性差异。说明 EGF 对舌黏膜上皮细胞凋亡相关基因 Fas 及增殖分化相关基因 c-myc 的表达都有促进作用,而且对 c-myc 的促进作用更为强烈。表明 EGF 一方面可通过增加 Fas 蛋白的表达,促使舌黏膜上皮细胞凋亡;另一方面,又可以通过促使 c-myc 的表达持续增高持续刺激舌上皮细胞增殖,进而形成病理性厚苔。

3.3 EGF 通过影响粘附分子的表达影响舌苔的形成 粘附分子(Adhesion Molecule, AM)是一类介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质间粘附作用的膜表面糖蛋白的统称,主要有整合素家族、黏蛋白样家族、选择素家族、免疫球蛋白超家族和钙黏素 5 大类,AM 在细胞增殖和分化、炎症反应、免疫应答、凝血、血栓形成等方面具有重要作用。CD29 是整合素家族成员之一,可以介导细胞与细胞外基质的粘附,使细胞得以附着而形成整体^[27],CD54 和 CD106 同属免疫球蛋白超家族,主要功能也是介导细胞间粘附^[28]。许冬青等^[29]以舌 Tca-8113 细胞株为研究对象,通过测定其细胞膜上 CD29、CD54、CD106 表达水平的变化,从 AM 角度探讨 EGF 影响舌苔形成的分子机制。结果显示随着时间的延长和 EGF 浓度的升高,CD29 表达明显持续升高;EGF 作用 8 h 后,各剂量组 CD54 表达均明显升高;16 h 后,各剂量组 CD54 表达尽管仍比对照组高,但已无统计学意义,说明 EGF 对 CD54 表达无持续增高作用;不同浓度 EGF 作用不同时间对 CD106 表达均无明显影响,从而证实 EGF 可能通过促进舌黏膜上皮细胞 CD29、CD54 的表达,介导细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间的粘附,从而影响舌苔形成。E-钙黏蛋白(E-cadherin, E-cad),是粘附分子中的另一个重要成员^[30],是一种肿瘤抑制因子。詹臻等^[31]的基因芯片结果显示 E-cad mRNA 在不同舌苔中的表达水平具有显著性差异,然后用 RT-PCR 技术进行定量分析,结果显示 E-cad mRNA 的表达从高到低依次为:黄厚苔 > 黄薄苔 > 剥苔 > 白厚苔 > 薄白苔 > 胎儿薄白苔。因此他们推测 E-cad 基因的表达可能是 EGF 和 EGF-R 结合后一个重要下游事件,参与舌苔的厚

薄形成。

3.4 EGF 通过促进上皮细胞角化来促进舌苔增厚 陆平成等^[32]通过对食管癌细胞株 Eca-109 细胞的研究发现当培养液中不含 EGF 时 90% 以上的 Eca-109 细胞均轻微角化,高度角化细胞只占 0.19%;当培养液中加入 EGF 后,随着 EGF 浓度的升高,细胞角化程度明显增强,特别是当 EGF 浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 时,轻度角化细胞数量减少,中高度角化细胞数量明显增多,促角化作用最明显。因此推断 EGF 促进上皮细胞角化是影响舌苔形成的另一重要机制。

4 小结与展望

EGF 是一种强效促细胞增殖细胞因子,其发挥作用的基本机制是通过与其细胞膜受体即 EGF-R 结合,使受体分子发生二聚化,诱导 EGF-R 自身磷酸化,激活受体自身酪氨酸激酶活性^[33-34],催化受体本身及下游多种信号分子磷酸化,启动 ras-MAPK、PI3K、PLC γ /PKC、STAT 等一系列的信号途径,从而引起相关基因的活化,调控与细胞生长、增殖有关的生化过程。

形态学研究表明健康人的正常舌苔由丝状乳头分化的角化树与填充其间的脱落上皮细胞、渗出的白细胞、唾液、细菌、食物碎屑等共同组成,丝状乳头的增殖分化程度决定舌苔的厚薄。病变机体唾液、血液或组织、细胞中 EGF 含量增加,增高的 EGF 通过作用于 EGF-R,参与有丝分裂的信号转导,影响凋亡相关基因和粘附分子的表达,从而促进舌黏膜上皮细胞的增生、分化、粘附、角化、迁移等,影响舌苔的形成和变化。EGF 与 EGF-R 结合是 EGF 发挥作用的上游事件,细胞凋亡、粘附及角化也是影响舌苔形成和变化的重要环节,这个复杂的调控网络还有待研究。

虽然 EGF 影响舌苔形成机理的研究已取得重要进展,但仍存在许多问题。首先,研究病种局限,样本形式单一。现有研究主要集中于肿瘤患者的唾液和血液或者肿瘤细胞,忽视了对可能可以提供最直接证据的舌苔以及舌黏膜组织本身的研究。其次,研究不够全面深入。众所周知,舌象是证候最直观、最灵敏外在反应,苔色是最重要的舌象要素,但苔色形成的机制尚不明确,尚无 EGF、舌苔、证型 3 者关系的研究。再次,现有研究结果存在不一致现象,如果不解决这些矛盾现象,这些研究结果将难以得到广泛的认可,更难以将其运用于指导临床。

近年来迅速崛起的生物学检测技术和生物信息

分析方法为我们系统地研究舌苔原理及其本质规律提供了新思路和新方法,人体和动物舌象客观化模型的研究进展也为我们深入开展舌苔理论的研究奠定了基础。开展此项研究,不仅可以为舌诊和辨证论治提供客观依据,还有助于开拓舌诊临床运用的新前景,EGF 与肿瘤的发生、发展密切相关,EGF 与舌苔的变化也关系密切,舌苔作为一种取材方便、简单无创的标本,能否将其运用肿瘤的早期预测及预后,值得我们深入研究。舌苔的形成和变化是一个复杂的过程,EGF 只是影响因素之一,全面揭示舌苔原理还有待我们进行更深层次的探索。

参考文献

- [1] 陈泽霖,戴豪良,凌治萍,等. 舌苔的电子显微镜研究 I 健康人薄白苔、淡红舌象的研究[J]. 中医杂志,1982,03:59-63,81.
- [2] Levi-Montal cini R, Cohen S. Effects of the extract of the mouse sub-maxillary salivary glands on the sympathetic system of mammals[J]. Ann N Y Acad Sci,1960,85(1):324-341.
- [3] Hardwicke J, Schmaljohann D, Boyce D, et al. Epidermal growth factor therapy and wound healing—past, present and future perspectives-The Surgeon[J]. Surgeon,2008,6(3):172-177.
- [4] 江德龙,燕善军. 表皮生长因子与胃肠道疾病[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2010,19(3):278-280.
- [5] 韩宏杰. 重组人表皮生长因子修复角膜异物剔除后角膜创面的分析[J]. 国际眼科杂志,2013,13(11):2240-2242.
- [6] Raper SE, Burwen SJ, Barker ME, et al. Translocation of epidermal growth factor to the hepatocyte nucleus during rat liver regeneration [J]. Gastroenterology,1987,92(5 Pt 1):1243-1250.
- [7] Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies[J]. Crit Rev Oncol Hematol,1995,19(3):183-232.
- [8] Dazzi H, Thatcher N, Hasleton PS, et al. DNA analysis by flow cytometry in nonsmall cell lung cancer; relationship to epidermal growth factor receptor, histology, tumour stage and survival [J]. Respir Med, 1990,84(3):217-23.
- [9] 钱洪江. EGF 和 PCNA 在胃黏膜中的表达及意义分析[J]. 山东医药,2006,46(23):87.
- [10] Foley J, Nickerson NK, Nam S, et al. EGFR signaling in breast cancer; bad to the bone[J]. Semin Cell Dev Biol,2010,21(9):951-960.
- [11] 詹臻,汪红,王瑞平,等. 舌苔与表皮生长因子(EGF)关系的临床研究[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2003,19(1):14-17.
- [12] 萧丹,刘梦光,张玉萍. 海洛因依赖者唾液表皮生长因子水平与舌苔变化的相关探讨[J]. 中国实验诊断学,2006,10(7):754-755.
- [13] 刘梦光,肖丹,张玉萍,等. 海洛因成瘾者唾液表皮生长因子含量及相关舌苔的观察[J]. 中国中西医结合脾胃杂志,2000,8(2):88-90.
- [14] 陈雪功,张琼玉,周雪梅. 慢性胃炎患者不同舌象唾液表皮生长因子及其受体变化[J]. 中华中医药杂志,2008,23(6):559-560.
- [15] 董伟,吴娟,张军峰,等. 胃癌患者血清表皮生长因子变化及其与对舌苔影响的研究[J]. 中华中医药杂志,2013,28(4):1127-1130.
- [16] 刘新华,周小青,罗尧岳. 慢乙肝患者舌苔与舌苔细胞凋亡、唾液、血清 EGF 含量变化及血清 HBV DNA 的关系[J]. 赣南医学院学报,2008,28(6):812-814.
- [17] 周坤福,詹臻,侯亮. 表皮生长因子(EGF)影响舌苔形成的分子机制[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2002,18(5):283-285.
- [18] 詹臻,侯亮. 表皮生长因子影响小鼠舌苔形成的信号传导分子机制初探[J]. 上海实验动物科学,2003,23(1):7-9.
- [19] 许冬青,王明艳,狄浏,等. 表皮生长因子影响肿瘤患者舌苔变化的分子机制研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2002,18(6):598-600.
- [20] 许冬青,佟书娟,詹臻. 表皮生长因子受体在舌癌患者常见舌苔中的表达[J]. 上海中医药大学学报,2007,21(1):47-49.
- [21] 佟书娟,张军峰,詹臻. 舌苔形成与 CD54 和 EGF-R 表达关系的初步研究[J]. 南京中医药大学学报,2010,26(2):118-119, II.
- [22] 张军峰,张春兵,吴娟,等. 胃癌患者舌苔变化与表皮生长因子受体基因单核苷酸多态性的相关性分析[J]. 北京中医药大学学报,2013,36(10):665-670.
- [23] 吴正治,李明,张盛薇,等. 不同舌苔舌上皮细胞的凋亡及相关基因分子机理研究[J]. 中国中西医结合杂志,2005,25(11):986-988.
- [24] 张军峰,詹臻. 凋亡相关基因调控舌苔形成的分子机制[J]. 现代生物医学进展,2009,9(4):742-745.
- [25] 李明,吴正治,何朝,等. bax mRNA 和蛋白产物与常见舌苔舌上皮细胞凋亡关系的研究[J]. 中国中医药科技,2003,10(5):299-300.
- [26] 许冬青,王明艳,詹臻. 表皮生长因子影响肿瘤患者舌苔变化分子机制探讨[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(2):134-136.
- [27] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 人民卫生出版社,2004,271.
- [28] 佟书娟,张军峰,詹臻. 舌苔形成与 CD54 和 EGF-R 表达关系的初步研究[J]. 南京中医药大学学报,2010,26(2):118-119, II.
- [29] 许冬青,王明艳,梁枫,等. 表皮生长因子影响肿瘤病人舌苔形成的机理探讨[J]. 口腔医学研究,2007,23(6):604-606.
- [30] 黄水清,徐霞峰,樊克武,等. E-钙粘蛋白表达与胃癌临床病理学关系的研究[J]. 临床肿瘤学杂志,2005,10(2):161-162,165.
- [31] 詹臻,张军峰,范媛,等. E-钙粘蛋白 mRNA 的表达与舌苔形成的关系研究[J]. 陕西中医,2007,28(8):1088-1091.
- [32] 陆平成,詹臻,王玉杰. 表皮生长因子促进舌苔增厚机理初探[J]. 南京中医药大学学报:自然科学版,2002,18(2):98-99.
- [33] 张军峰,詹臻. 凋亡相关基因调控舌苔形成的分子机制[J]. 现代生物医学进展,2009,9(4):742-745.
- [34] 任晓岚,汪鑫,李志裕,等. 表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂的研究进展[J]. 中国新药杂志,2005,14(7):821-826.